

DETEKSI BAKTERI PATOGEN TERBAWA BENIH AKOR (*ACACIA AURICULIFORMIS* A. CUNN. EX BENTH.)

Tati Suharti¹, Tri Joko², & Triwidodo Arwiyanto²

¹Program Studi Fitopatologi Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada

²Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada
Bulaksumur, Caturtunggal, Sleman, Yogyakarta 55281
E-mail: tie_772001@yahoo.com

ABSTRACT

Detection of seed-borne pathogenic bacteria of northern black wattle (*Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth.).

Intensive research of seed-borne pathogen of *A. mangium* and *A. crassicarpa* which have been established in industrial timber estate (HTI), while plantings development of northern black wattle in Indonesia 1990 have not recent been established in the 1990s. Very limited information available on northern black wattle diseases especially seed-borne diseases. The objectives of this study were to identify seed-borne pathogenic bacteria of northern black wattle and the effects on seed germination. Methods for the isolation of bacteria were by seed soaking, seed griding, blotter test, growing-on test on paper and soil. Identification of bacteria by PCR used 63F/1387R primer. The results showed that seed-borne bacteria of northern black wattle were *Paenochrobactrum* sp., *Ralstonia* sp., *Burkholderia cepacia* complex, *Pseudomonas stutzeri*, *Acinetobacter* sp., *Alcaligenes faecalis*, *Salmonella bongori*, *Escherichia hermannii* while pathogenic bacteria cause seedling leafspot were *Micrococcus luteus* and *Burkholderia cepacia* complex. *Burkholderia cepacia* complex, *A. faecalis*, *Acinetobacter* sp., *P. stutzeri*, *S. bongori* and *Ralstonia* sp. reduced seed germination and increased rotten seed, suggested that they were the pathogenic bacteria of northern black wattle seed. *Ralstonia* sp. significantly increased the percentage of rotten seed and decreased shoot length and root length. *P. stutzeri* and *S. bongori* significantly inhibited the root growth. *Paenochrobactrum* sp. and *E. hermannii* were assumed as pathogen with weak virulence due to seed germination, the percentage of rotten seed and vigour index were relatively similar to untreated seed.

Key words: *Acacia auriculiformis*, bacteria, pathogen, seed

ABSTRAK

Deteksi bakteri patogen terbawa benih akor (*Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth.). Penelitian patogen terbawa benih sudah banyak dilakukan untuk mangium (*A. mangium*) dan krasikarpa (*A. crassicarpa*) yang banyak dikembangkan di HTI namun untuk pengembangan tanaman akor (*Acacia auriculiformis*) di Indonesia baru dimulai tahun 1990-an sehingga belum banyak informasi mengenai penyakit pada akor di Indonesia khususnya penyakit terbawa benih. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bakteri patogen terbawa benih akor dan pengaruhnya terhadap perkecambah benih. Isolasi bakteri dilakukan dengan perendaman benih, penggerusan benih, inkubasi benih, *growing on test* pada kertas dan pada tanah steril. Identifikasi bakteri dengan PCR dengan menggunakan primer 63 F/1378R. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa bakteri terbawa benih akor antara lain *Paenochrobactrum* sp., *Ralstonia* sp., *Burkholderia cepacia* complex, *Pseudomonas stutzeri*, *Acinetobacter* sp., *Alcaligenes faecalis*, *Salmonella bongori*, *Escherichia hermannii* sedangkan patogen penyebab bercak pada daun bibit akor adalah *Micrococcus luteus* dan *Burkholderia cepacia* complex. *Burkholderia cepacia* complex, *A. faecalis*, *Acinetobacter* sp., *P. stutzeri*, *S. bongori* dan *Ralstonia* sp. dapat menurunkan daya berkecambah dan meningkatkan persentase benih berlendir sehingga bakteri tersebut diduga merupakan patogen pada benih akor. *Ralstonia* sp. meningkatkan persentase benih berlendir dan menurunkan panjang tunas dan panjang akar *P. stutzeri* dan *S. bongori* berpengaruh nyata dalam menghambat pertumbuhan akar. *Paenochrobactrum* sp. dan *E. hermannii* diduga merupakan patogen dengan virulensi lemah karena daya berkecambah, persentase infeksi benih terinfeksi dan index vigor benih yang diinokulasi *E. hermannii* dan *Paenochrobactrum* sp. relatif sama dengan pada kontrol.

Kata kunci: *Acacia auriculiformis*, bakteri, benih, patogen

PENDAHULUAN

Akor (*Acacia auriculiformis*) merupakan jenis tanaman hutan yang cepat tumbuh (*fast growing species*). Akor mempunyai banyak manfaat antara lain untuk industri mebel, bahan baku kertas, konstruksi ringan, sumber tanin, penghijauan, rehabilitasi lahan kritis dan bekas tambang, pemecah angin, pencegah erosi, bahan bakar, peneduh jalan, agroforestri, penghasil madu, substrat jamur *edible*, industri batik dan keperluan estetis (Turnbull *et al.*, 1998; Joker, 2001).

Dewasa ini akor banyak dikembangkan di hutan tanaman industri (HTI) dan hutan rakyat mengingat salah satu potensi dari tanaman ini sebagai sumber energi. Produktivitas kayu akor 12-15 m³/ha/tahun dengan rotasi 10-12 tahun sedangkan produksi arang dari akor mencapai 16 ton/ha/tahun (Gosling, 2007). Akor untuk kebutuhan sumber energi dapat dipanen pada umur 3 tahun (Haishui & Zengjiang, 1993). Produksi kayu akor di Indonesia mencapai 15-20 m³/ha/tahun dengan rotasi 10-12 tahun (Das, 1986 dalam Islam, 2013).

Dalam mendukung program penanaman akor untuk berbagai peruntukan tersebut diperlukan benih bermutu. Namun salah satu kendala dalam pelaksanaan penanaman yaitu tidak tersedianya benih bermutu baik mutu fisik, fisiologis, genetik maupun patologis dalam jumlah yang cukup.

Patogen terbawa benih dapat menyebabkan kerugian secara ekonomi. Kerugian akibat patogen terbawa benih dapat terjadi baik pada saat di lapangan maupun ditempat penyimpanan. Kerugian tersebut dapat terjadi secara langsung pada tanaman yang berasal dari benih yang bersangkutan seperti menurunkan kualitas benih, mengurangi perkecambahan benih, vigor bibit dan daya simpan benih atau dapat terjadi dalam jangka panjang setelah patogen mampu bertahan di tanah, sisa tanaman dan gulma.

Penelitian patogen terbawa benih sudah banyak dilakukan pada mangium (*A. mangium*) dan krasikarpa (*A. crassikarpa*) yang banyak dikembangkan di HTI namun untuk pengembangan tanaman akor di Indonesia baru dimulai tahun 1990-an (Hendrati *et al.*, 2014) sehingga belum banyak informasi mengenai penyakit pada akor di Indonesia khususnya penyakit terbawa benih. Penelitian jamur patogen terbawa benih akor sudah dilakukan pada penelitian sebelumnya sedangkan informasi bakteri patogen terbawa benih akor belum banyak dijumpai. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui bakteri patogen terbawa benih akor dan pengaruhnya terhadap perkecambahan benih.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu. Lokasi pengunduhan benih akor (*Acacia auriculiformis*) yaitu di Desa Banaran, Kecamatan Playen, Kabupaten Gunung Kidul, Yogyakarta. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Tumbuhan, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada dari bulan Juli 2015 sampai Juni 2016.

Isolasi Bakteri dengan Perendaman dan Penggerusan Benih. Benih didisinfeksi dengan natrium hipoklorit 0,5% selama 4 menit selanjutnya dicuci dengan air suling steril sebanyak 3 kali (Umesha, 2006). Ekstraksi benih menurut Bolkan *et al.* (1997) yaitu 400 benih dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 50 ml buffer fosfat (7,75 g/l of K₂HPO₄+ 1,65 g/l KH₂PO₄) pH7,4 selanjutnya digojok selama 15 menit. Pengenceran berseri sampai 10⁻⁵ dilakukan dengan buffer fosfat. Sebanyak 0,1 ml dari masing-masing pengenceran ditumbuhkan pada media YPA (pepton 10 g, yeast 3 g, akuades 1000 ml) (Schaad *et al.*, 2001) dan King's B (pepton 20 g, KH₂PO₄ 1,5 g, MgSO₄.7H₂O 1,5 g, gliserol 15 ml, agar 5 g, akuades 1000 ml) (Schaad *et al.*, 2001) yang ditambahkan 100 ppm *Cycloheximide*. Untuk penggerusan, benih setelah disterilisasi digerus dengan menggunakan mortar selanjutnya digojok selama 15 menit dan dilakukan pengenceran berseri.

Metode Inkubasi dengan Media Kertas. Benih sebanyak 400 (100 x 4 ulangan) diletakkan di dalam cawan petri berdiameter 15 cm yang telah diberi tiga lapis kertas saring basah. Sebelum dikecambahkan, terdapat 2 perlakuan terhadap benih yang disterilisasi terlebih dahulu dengan NaOCl 0,5 % kemudian dicuci air steril sebanyak 3 kali dan benih yang tidak disterilisasi (hanya dicuci air steril). Selanjutnya benih diinkubasi pada suhu kamar dengan penyinaran lampu 12 jam terang dan 12 jam gelap secara bergantian selama 7 hari. Pengamatan meliputi identifikasi bakteri patogen, gejala penyakit pada benih dan persentase infeksi bakteri.

Growing-on Test pada Media Kertas. Benih sebanyak 400 (100 x 4 ulangan) direndam dalam air panas (suhu ± 97 °C) dan dibiarkan sampai dingin selama 24 jam selanjutnya ditabur pada media kertas steril. Pengamatan dilakukan selama 4 minggu, meliputi daya berkecambah dan persentase benih terinfeksi bakteri.

Growing-on Test pada Media Tanah Steril. Uji ini ditujukan untuk meniru atau mewakili kondisi lapangan. Pengujian ini dilakukan untuk bakteri patogen terbawa benih yang membutuhkan waktu inkubasi lama sehingga menghasilkan gejala pada bibit. Benih ditabur sebanyak 400 butir (100 x 4 ulangan) pada nampan berisi tanah steril. Polybag (20 x 10 cm) diisi tanah steril sebanyak $\frac{3}{4}$ volume polybag selanjutnya bibit yang berumur 1 bulan dipindah ke polybag sebanyak 1 bibit/polybag. Pengamatan dilakukan sampai bibit berumur 3 bulan. Apabila terdapat penyakit yang disebabkan bakteri, patogen diisolasi dan selanjutnya diidentifikasi.

Uji Reaksi Hipersensitif (HR). Suspensi bakteri dibuat dengan air steril dengan kepadatan $\pm 10^8$ sel/ml. Suspensi bakteri diinfiltrasikan ke dalam helai daun tembakau dengan alat injeksi yang jarumnya dilepas sampai nampak bercak kebasahan (hijau tua). Kontrol menggunakan air steril. Pengamatan dilakukan sampai tujuh hari kemudian.

Uji Inokulasi Buatan pada Tanaman Inang. Bibit akar diinokulasi dengan suspensi bakteri yang menunjukkan gejala klorosis atau nekrosis pada uji HR. Gunting dicelupkan dalam suspensi bakteri dengan kepadatan $\pm 10^8$ sel/ml. Selanjutnya daun diinokulasi dengan suspensi bakteri dengan cara menggantung daun sebanyak 4 ulangan untuk masing-masing isolat. Kontrol menggunakan air steril.

Uji Reaksi Gram. Isolat yang menunjukkan gejala pada uji patogenesis kemudian dilakukan uji Gram. Pengujian dengan menggunakan KOH 3%. Satu ose bakteri diletakkan pada gelas benda dan diberi satu tetes KOH 3% lalu dicampur-ratakan. Apabila ketika jarum ose diangkat terbentuk benang lendir maka bakteri merupakan Gram negatif.

Uji Oksidasi Fermentasi (OF). Satu ose bakteri ditusukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media OF (pepton 2,0 g, NaCl 5,0 g, glukosa 10,0 g, KH_2PO_4 0,3 g, agar 15 g, bromtymol blue (1%) 3,0 ml, aquades 1000 ml, PH 6,8 -7,1 (Sands, 1990). Media diberi minyak parafin dan tidak diberi minyak parafin masing-masing sebanyak 3 tabung. Selanjutnya semua tabung tersebut diinkubasi pada suhu kamar dan diamati selama 2 minggu. Apabila terjadi perubahan warna hijau menjadi kuning pada tabung yang diberi dan tidak diberi minyak parafin, maka bakteri tersebut aerob/anaerob fakultatif.

Uji Oksidase. Satu ose bakteri digoreskan pada kertas filter yang telah mengandung tetrametil-

parafenilendiamin dihidroklorida ($\text{C}_6\text{H}_4[\text{N}(\text{CH}_3)_2] \cdot 2 \cdot \text{HCl}$) 1%. Apabila terjadi perubahan warna menjadi merah keunguan dalam waktu 10-60 detik, maka bakteri mempunyai sitokrom C.

Uji Katalase. Satu ose bakteri diletakkan pada gelas benda. Selanjutnya diberi satu tetes (H_2O_2). Apabila terbentuk gelembung udara maka bakteri mempunyai enzim katalase.

PCR. Isolat bakteri yang akan diidentifikasi dengan PCR adalah isolat yang menunjukkan gejala klorosis atau nekrosis pada uji HR dan uji inokulasi buatan pada tanaman inang dari setiap metode (perendaman benih, penggerusan benih, inkubasi pada kertas, *growing-on test* pada kertas dan tanah steril). Apabila dari masing-masing metode tersebut menghasilkan warna koloni yang berbeda maka koloni yang berbeda warna tersebut diidentifikasi dengan PCR. Primer yang digunakan yaitu primer universal 63F (5 – CAG GCC TAA CAC ATG CAA GTC–3) dan 1378R (5 –GGG CGG WGT GTA CAA GGC – 3) (Marchesi *et al.*, 1998). Pasangan primer 63 F/1378R memiliki urutan basa 1300 pasang basa. Marker yang dipakai adalah 1 kilo pasang basa. Tahapan identifikasi dengan PCR yaitu isolasi DNA bakteri, amplifikasi DNA dengan PCR dan elektroforesis.

Isolasi DNA bakteri. Isolasi DNA mengikuti metode yang dikembangkan Ausubel *et al.* (2003) dengan modifikasi (Berlian, 2012).

Amplifikasi DNA dengan PCR. Mesin PCR yang digunakan yaitu MJ Research PTC-150 MiniCycler, BIO RAD. Komposisi yang digunakan sebanyak 25 μl yang terdiri dari 12,5 μl kapa taq ready mix, 1 μl primer F 10 pmol, 1 μl primer R 10 pmol, aquabides 9,5 μl dan DNA bakteri 1 μl . Siklus amplifikasi yang digunakan yaitu predenaturasi dengan suhu 95°C selama 3 menit, denaturasi dengan suhu 95 °C selama 30 detik, *annealing* dengan suhu 50 °C selama 30 detik, *ekstension* dengan suhu 72 °C selama 1 menit dengan *final ekstension* dengan suhu 72 °C selama 2 menit sebanyak 35 siklus.

Elektroforesis. Visualisasi DNA menggunakan agarose 1%. Agarose ditimbang sebanyak 0,3 gr dan dimasukkan ke dalam botol kaca selanjutnya ditambah TBE 1 X sebanyak 30 ml. Setelah itu dipanaskan dengan menggunakan *microwave* selama ± 5 menit. Larutan dituang ke dalam cetakan (*gel tray*). DNA hasil amplifikasi dimasukkan ke dalam sumuran gel masing-masing sebanyak 3 μl . DNA marker yang digunakan adalah 1 kilo pasang basa sebanyak 3 μl . Gel agarosa

dimasukkan ke dalam mesin elektroforesis yang berisi TBE 1 X. Elektroforesis dilakukan selama 45 menit pada 50 volt. Setelah itu dilakukan pewarnaan dengan menggunakan *ethidium bromide* (EtBR) dengan merendam gel selama 10 menit selanjutnya visualisasi DNA dengan menggunakan UV transiluminator (UV Transiluminator 2000, BIO RAD).

Analisis sekuen DNA dan Filogenetik. DNA hasil amplifikasi selanjutnya disekuensing yang dilakukan oleh PT. Genetika Science Indonesia dengan menggunakan pasangan primer 63 F/1387 R. Analisis homologi hasil sekuensing menggunakan program Blast (Basic Local Alignment Search Tool) di NCBI. Analisis sekuen nukelotida isolat dan filogenetik menggunakan *software* MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013) berdasarkan pendekatan *Neighbor- Joining* (NJ).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Benih Akor Diduga Terinfeksi Bakteri pada Perkecambahan di Media Kertas. Benih yang diduga terinfeksi bakteri ditandai dengan adanya lendir pada permukaan benih. Benih yang berlendir tersebut secara umum tidak dapat berkecambah. Gejala lain benih yang

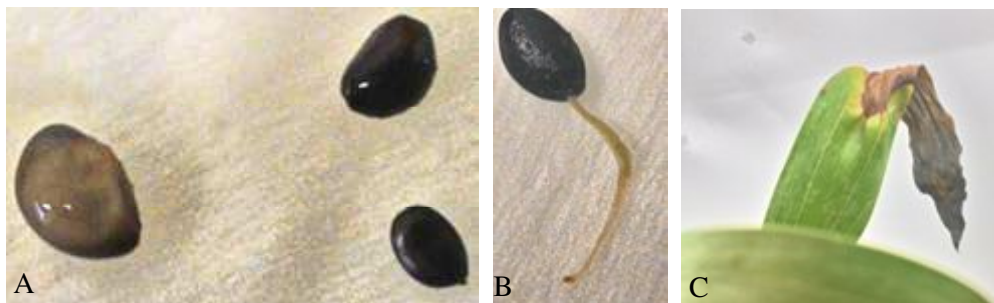
diduga terinfeksi bakteri yaitu dengan ditandai benih berlendir, hampa dan busuk (Gambar 1). Pada bibit umur 2 bulan ditemukan bibit yang diduga terinfeksi patogen dengan ditandai bercak coklat yang dimulai dari ujung daun (Gambar 1c).

Lendir yang terdapat di permukaan benih diamati dengan menggunakan TEM (*transmission electron microscope*). Lendir pada permukaan benih akor di perkecambahan diduga terdapat populasi berbagai jenis bakteri dengan bermacam-macam bentuk seperti batang, batang bengkok, batang bulat (Gambar 2).

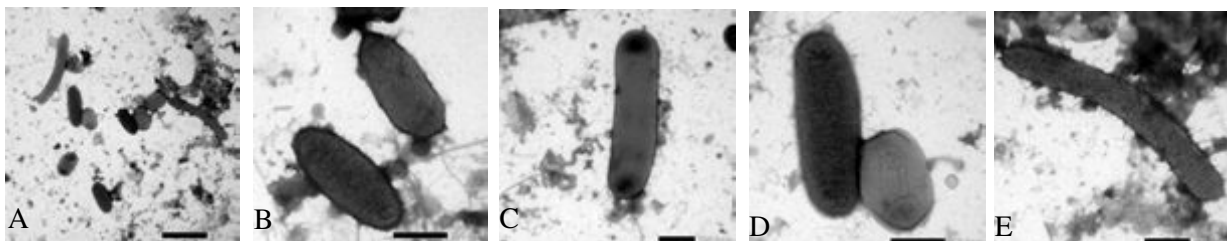
Identifikasi Bakteri Patogen Terbawa Benih Akor.

Pada metode penggerusan benih dan diisolasi pada media Kings' B tidak ditemukan koloni bakteri setelah diinkubasi selama seminggu. Jumlah isolat bakteri dan persentase isolat yang menunjukkan gejala klorosis dan nekrosis pada uji hipersensitif dan uji inokulasi buatan pada tanaman inang dari masing-masing metode tertera pada Tabel 1.

Gejala klorosis dan nekrosis pada uji HR yang paling banyak ditemukan pada isolat dari inkubasi benih baik yang disterilisasi dengan NaOCl maupun yang tidak disterilisasi dan isolat dari daun bibit (*growing on test*) sedangkan yang paling sedikit menghasilkan gejala diperoleh dari penggerusan benih (47%). Gejala dimulai



Gambar 1. Beberapa gejala penyakit yang diduga disebabkan bakteri pada benih, kecambah dan daun bibit; A. Benih berlendir dan benih sehat, B. Kecambah busuk, C. Bercak coklat



Gambar 2. Morfologi sel bakteri terbawa benih akor; A. Morfologi beberapa jenis bakteri yang terdapat pada permukaan benih akor di Perkecambahan, B. Sel bakteri berbentuk batang oval (*ovoid bacillus*) dengan flagel, C. Sel bakteri berbentuk panjang dengan flagel, D. Sel bakteri berbentuk panjang (*bacillus*) tidak berflagel dan berbentuk batang bulat (*coccus bacillus*), E. Sel bakteri berbentuk panjang membengkok (*curve bacillus*)

dengan klorosis tetapi apabila berkembang dengan cepat dapat menghasilkan gejala nekrosis (Gambar 3). Umumnya gejala klorosis dan nekrosis jelas terlihat pada 48 jam setelah inokulasi. Fanani *et al.* (2015) melaporkan bahwa pada uji HR, bakteri patogen pada tanaman kantong semar menunjukkan gejala nekrosis dalam waktu 48 jam setelah inokulasi.

Gejala klorosis dan nekrosis pada uji inokulasi buatan muncul mulai hari ke-4. Hadianto *et al.* (2015) melaporkan bahwa uji inokulasi buatan *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* pada padi varietas Inpari menghasilkan gejala nekrosis pada hari ke-4. Gejala yang ditimbulkan yaitu bercak nekrotik berwarna coklat disekitar tempat inokulasi atau klorosis di jaringan sekitar

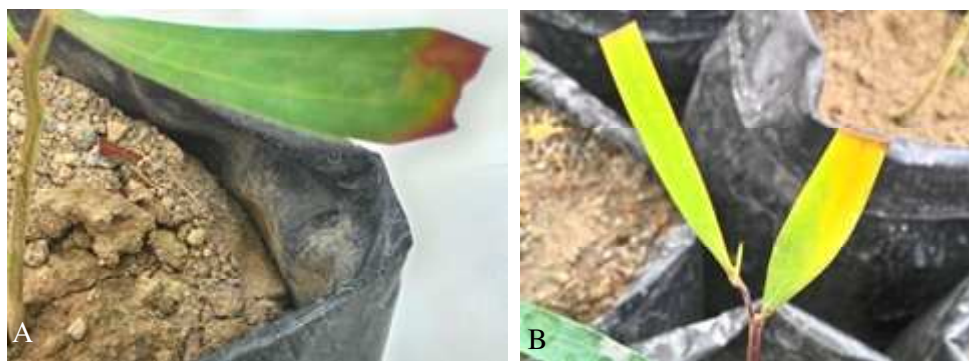
tempat inokulasi (Gambar 4). Isolat yang diperoleh dari benih (bukan dari bibit) menghasilkan gejala klorosis dan nekrosis pada uji inokulasi buatan yang sama dengan pada uji HR yaitu paling sedikit ditemukan pada isolat penggerusan benih (20,75%) sedangkan yang paling banyak ditemukan pada isolat inkubasi benih yang disterilisasi NaOCl (70%). Dengan demikian metode penggerusan benih menghasilkan isolat paling sedikit yang menghasilkan gejala pada uji HR dan uji inokulasi buatan, sebaliknya metode yang menghasilkan isolat yang relatif banyak menghasilkan gejala pada uji HR dan uji inokulasi buatan adalah metode inkubasi benih yang disterilisasi NaOCl.

Tabel 1. Jumlah isolat bakteri dari berbagai metode yang menunjukkan gejala klorosis dan nekrosis pada uji hipersensitif dan uji inokulasi buatan pada tanaman inang

Metode	Media	Jumlah isolat	Uji Hipersensitif (%)	Uji Inokulasi Buatan (%)
Perendaman	KB	21	66,67	45,00
Perendaman	YPA	42	57,14	26,19
Penggerusan	KB	-	-	-
Penggerusan	YPA	53	47,00	20,75
Inkubasi pada kertas disterilisasi NaOCl	YPA	10	100,00	70,00
Inkubasi pada kertas tidak disterilisasi NaOCl	YPA	18	100,00	44,44
<i>Growing on test</i> pada kertas	YPA	10	60,00	50,00
<i>Growing on test</i> pada tanah steril	YPA	10	100,00	30,00



Gambar 3. Gejala klorosis dan nekrosis pada uji HR



Gambar 4. Gejala pada uji inokulasi buatan; A. Nekrosis, B. Klorosis

Isolat yang menunjukkan gejala klorosis dan nekrosis pada uji inokulasi buatan selanjutnya dilakukan uji Gram, katalase, oksidase dan oksidasi fermentasi sebanyak 40 isolat. Hampir semua isolat yang diuji merupakan bakteri Gram negatif. Terdapat satu isolat

(B2) merupakan bakteri Gram positif. Semua isolat yang diuji merupakan bakteri aerob dan mempunyai enzim katalase (Tabel 2).

Hasil pengujian menggunakan metode PCR ditentukan berdasarkan panjang produk DNA yang

Tabel 2. Beberapa karakteristik isolat dari masing-masing metode

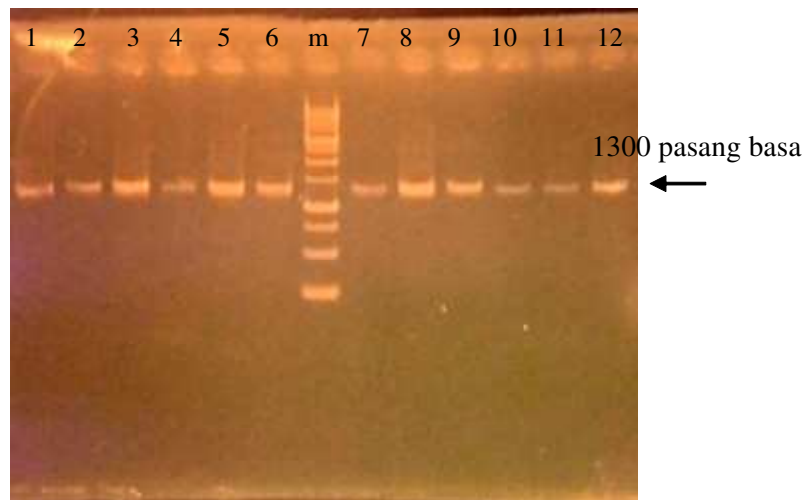
Metode	Isolat	Morfologi koloni	G	K	O	OF
Perendaman diisolasi pada King's B	KB 2	Krem, abu-abu kecoklatan, mukoid, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	KB 3	Krem, abu-abu kecoklatan, mukoid, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	KB 4	Krem, abu-abu kecoklatan, mukoid, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	KB 11	Krem, abu-abu kecoklatan, mukoid, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	KB 13	Krem, abu-abu kecoklatan, mukoid, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	KB 15	Krem, abu-abu kecoklatan, mukoid, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	KB 17	Krem, abu-abu kecoklatan, mukoid, bulat, tepi halus	-	+	+	+
Perendaman diisolasi pada YPA	Y 1.4	Putih, krem, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	Y 1.8	Krem, kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	Y 1.15	Putih, krem, tak beraturan, pinggir berlekuk, kering	-	+	+	+
	Y 1.17	Krem, kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	Y 2.12	Krem, kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	Y 2.14	Putih, krem, tak beraturan, pinggir berlekuk, kering	-	+	+	+
	Y 2.17	Krem, kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
Y. 2.21	Krem, kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+	
Pengerusan diisolasi pada YPA	YT 1.1	Putih, krem, tak beraturan, pinggir berlekuk, kering	-	+	+	+
	YT 1.2	Putih, krem, tak beraturan, pinggir berlekuk, kering	-	+	+	+
	YT 1.17	Krem, kuning, bulat, tepi halus	-	+	-	+
Inkubasi pada kertas disterilisasi NaOCl	Na 1	Kuning muda, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	Na 2	Kuning muda, kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	Na 3	Krem, kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	Na 4	Krem, kuning, bulat, tepi halus,	-	+	+	+
	Na 5	krem, kuning tua, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	Na 7	krem, kuning tua, tepi halus,	-	+	+	+
	Na 8	Krem, kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	Growing on test pada kertas	AP 2	Kuning, bulat, tepi halus	-	+	+
AP 3		Kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
AP 5		Kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
AP 6		Kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
AP 7		Kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
Inkubasi pada kertas tidak disterilisasi NaOCl	ST 1.1	Putih, krem, bulat, tepi halus, mukoid	-	+	-	+
	ST 1.3	Putih, krem, bulat, tepi halus, mukoid	-	+	-	+
	ST 2.1	Kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	ST 2.2	Kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	ST 2.3	Krem, kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	ST 2.7	Kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	ST 2.11	Krem, kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	B1	Krem, kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+
	B2	Kuning, bulat, tepi halus	+	+	+	+
	B4	Krem, kuning, bulat, tepi halus	-	+	+	+

G: Gram; K: Katalase; O: Oksidase; OF: Oksidasi fermentasi

dihasilkan dari proses PCR. Panjang produk PCR ditentukan dengan mensejajarkan pita DNA target dengan marker yang memiliki skala penanda panjang DNA. Hasil positif ditentukan dari posisi pita DNA yang sesuai dengan panjang produk yang diharapkan. Fragmen DNA hasil amplifikasi masing-masing isolat bakteri teramplifikasi dan diperkirakan mempunyai ukuran \pm 1300 pasang basa (Gambar 5). Keberhasilan amplifikasi DNA dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu konsentrasi primer. Joko *et al.* (2011) melaporkan

bahwa pengenceran primer 10x (10 pmol) menghasilkan amplifikasi DNA yang optimal.

Hasil analisis sekuensing semua isolat dengan BLAST pada NCBI diperoleh *E-value* nol sehingga semua sekuen homolog dengan sekuen yang terdapat di NCBI (Tabel 3). Pensejajaran hasil sekuensing dengan sekuen yang terdapat pada *GenBank* diperoleh tingkat kemiripan $e^{98\%}$ sebanyak 9 isolat dan terdapat 2 isolat yang mempunyai tingkat kemiripan relatif rendah yaitu AP3 (87 %) dan Na7 (88 %). Selanjutnya hubungan



Gambar 5. Hasil elektroforesis gel amplifikasi gen 16S rRNA; 1. isolat AP 3, 2. isolat B1, 3. isolat Na7, 4. isolat YT 1.17, 5. isolat ST 2.2, 6. isolat Y 2.12, 7. isolat KB 3, 8. isolat B2, 9. isolat Na1, 10. isolat YT 1.2, 11. isolat ST 1.3, 12. isolat Y 2.14, m = marker

Tabel 3. Hasil pensejajaran sekuen isolat beberapa bakteri pada benih dan bibit akor dengan sekuen yang terdapat pada *GenBank*

Isolat	Max score	Total score	Query cover	E-value	Ident	Sekerabat
KB 3	987	987	72%	0	87%	<i>Paenochrobactrum</i> sp.
AP 3	2169	2169	95%	0	97%	<i>Ralstonia</i> sp.
B1	2170	2170	93%	0	99%	<i>Burkholderia cepacia</i> complex
B2	2226	2226	97%	0	98%	<i>Micrococcus luteus</i>
Na1	1238	1238	100%	0	100%	<i>Alcaligenes faecalis</i>
Na7	1271	1271	85%	0	88%	<i>Acinetobacter</i> sp.
ST 1.13	1136	1507	99 %	0	99 %	<i>Escherichia hermannii</i>
ST 2.2	1832	2424	99 %	0	99 %	<i>Burkholderia cepacia</i> complex
YT 1.2	1858	2482	99 %	0	99 %	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
YT 1.17	1875	2401	99 %	0	99 %	<i>Salmonella bongori</i>
Y 2.12	1881	2406	99 %	0	99 %	<i>Burkholderia cepacia</i> complex
Y 2.14	1149	1474	99 %	0	99 %	<i>Pseudomonas stutzeri</i>

kekerabatan untuk tiap isolat divisualisasikan dalam pohon filogenetik.

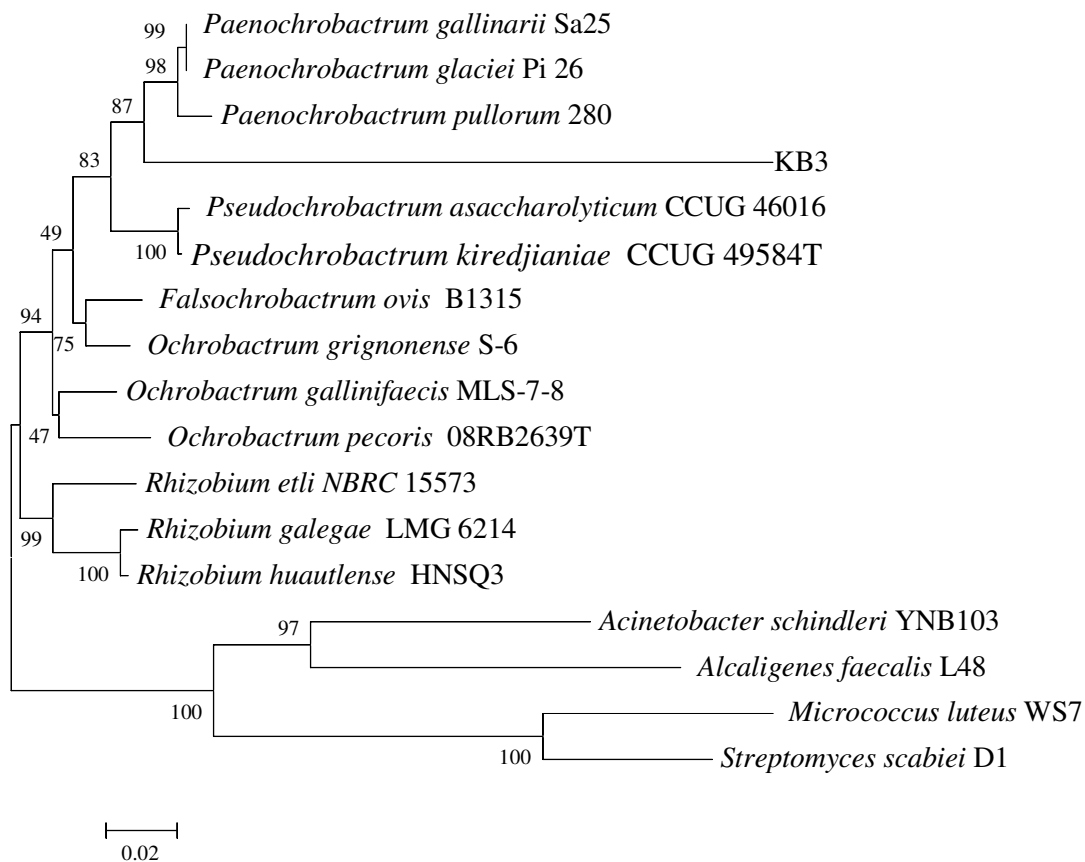
Hasil pensejajaran sekuen isolat KB3 dengan sekuen pada *GenBank* sekerabat dengan *Paenochrobactrum* sp. (Gambar 6) dengan tingkat kemiripan sebesar 87 %.

Paenochrobactrum sp. merupakan bakteri endofit pada kilemo (*Litsea cubeba*) (Ling *et al.*, 2012). Bakteri dari famili yang sama (Brucellaceae) yaitu *Ochrobactrum antropi* merupakan patogen pada benih *Prunus dulcis* (Rakhashiya *et al.*, 2016).

Isolat AP3 sekerabat dengan *Ralstonia* sp. dengan tingkat kemiripan sebesar 97% (Gambar 7). *Ralstonia* sp. ditemukan pada benih mentimun (Ofek *et al.*, 2011).

Isolat B1, ST 2.2 dan Y 2.12 sekerabat dengan *Burkholderia cepacia* complex dengan tingkat kemiripan 99 % (Gambar 8). Dari Gambar 8 terlihat bahwa ketiga isolat belum bisa dipastikan spesiesnya karena *Burkholderia cepacia* complex memiliki hubungan kekerabatan yang dekat, namun ketiga isolat

ini memiliki kekerabatan genetik yang dekat dengan *Burkholderia contaminans*. *Burkholderia cepacia* complex terdiri dari 17 spesies antara lain *Burkholderia cepacia*, *B. multivorans*, *B. cenocepacia*, *B. stabilis*, *B. vietnamiensis*, *B. dolosa*, *B. ambifaria*, *B. anthina*, *B. pyrrocinia*, *B. ubonensis*, *B. latens*, *B. diffusa*, *B. arboris*, *B. seminalis*, *B. metallica*, *B. contaminans* dan *B. lata*. Dua spesies terbaru yaitu *B. contaminans* dan *B. lata* (Vanlaere *et al.*, 2009). Beberapa spesies dilaporkan memiliki hubungan kekerabatan yang dekat seperti *Burkholderia cepacia* complex (>97,5 %) dengan 16S rRNA (Coenye *et al.*, 2001) sehingga untuk membedakan ketiga isolat tersebut sebaiknya menggunakan primer gen *housekeeping*. Gen *housekeeping* merupakan gen fungsional yang mempunyai laju evolusi lebih tinggi daripada gen 16S rRNA (Avise, 1994). Mahenthiralingam *et al.* (2000) melaporkan bahwa gen *recA* merupakan gen *housekeeping* yang dapat membedakan keragaman *Burkholderia cepacia* complex. *Burkholderia* sp. ditemukan pada benih mentimun (Ofek *et al.*, 2011).



Gambar 6. Pohon filogenetik menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat KB3 berdasarkan sekuen 16S rRNA yang terdapat di *GenBank*. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan pendekatan *Neighbor-Joining* (NJ) dengan *bootstrap* 1000x. Sekuen *Acinetobacter schindleri*, *Alcaligenes faecalis*, *Micrococcus luteus* dan *Streptomyces scabiei* digunakan sebagai *outgroup*

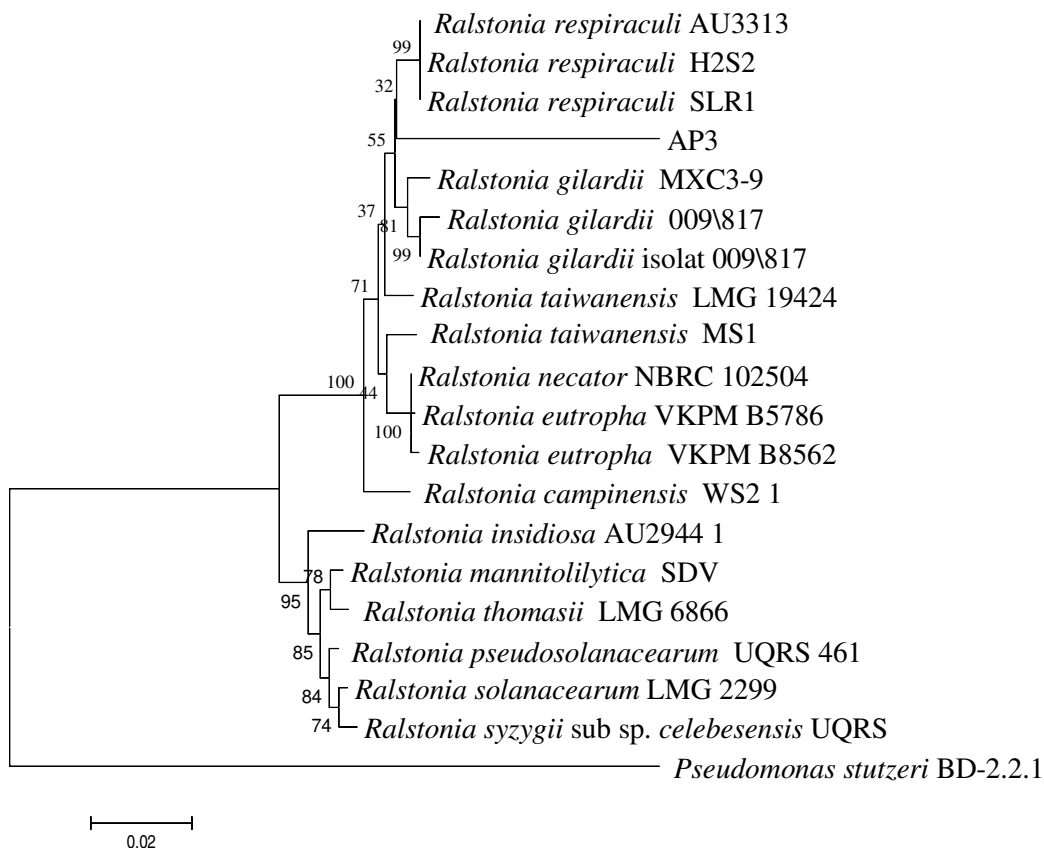
Burkholderia sp. dapat berada di xylem, *substomatal chamber* dan bagian *aerial* tanaman anggur melalui aliran transpirasi (Compant *et al.*, 2005). *Burkholderia cepacia* complex dilaporkan ditemukan pada akar dan batang tebu (Gonzalez *et al.*, 2011).

Isolat B2 sekerabat dengan *Micrococcus luteus* dengan tingkat kemiripan 98 % (Gambar 9). *Micrococcus* sp. merupakan patogen pada tanaman *horse chestnut* (*Aesculus* L.). Patogen menyebabkan tunas kering dan 1/3 sampai 1/2 permukaan daun nekrosis. Terdapat klorosis di sekitar nekrosis. Nekrosis terdapat pada ujung sampai tengah daun kemudian menjadi kering (Iakovleva *et al.*, 2013). Gejala tersebut sama seperti yang terdapat pada daun bibit akor. Rakhshiya *et al.* (2015) melaporkan bahwa di India, *M. luteus* menyebabkan bercak daun mangga. Daun yang terinfeksi dapat gugur sehingga dapat menurunkan produksi buah mangga.

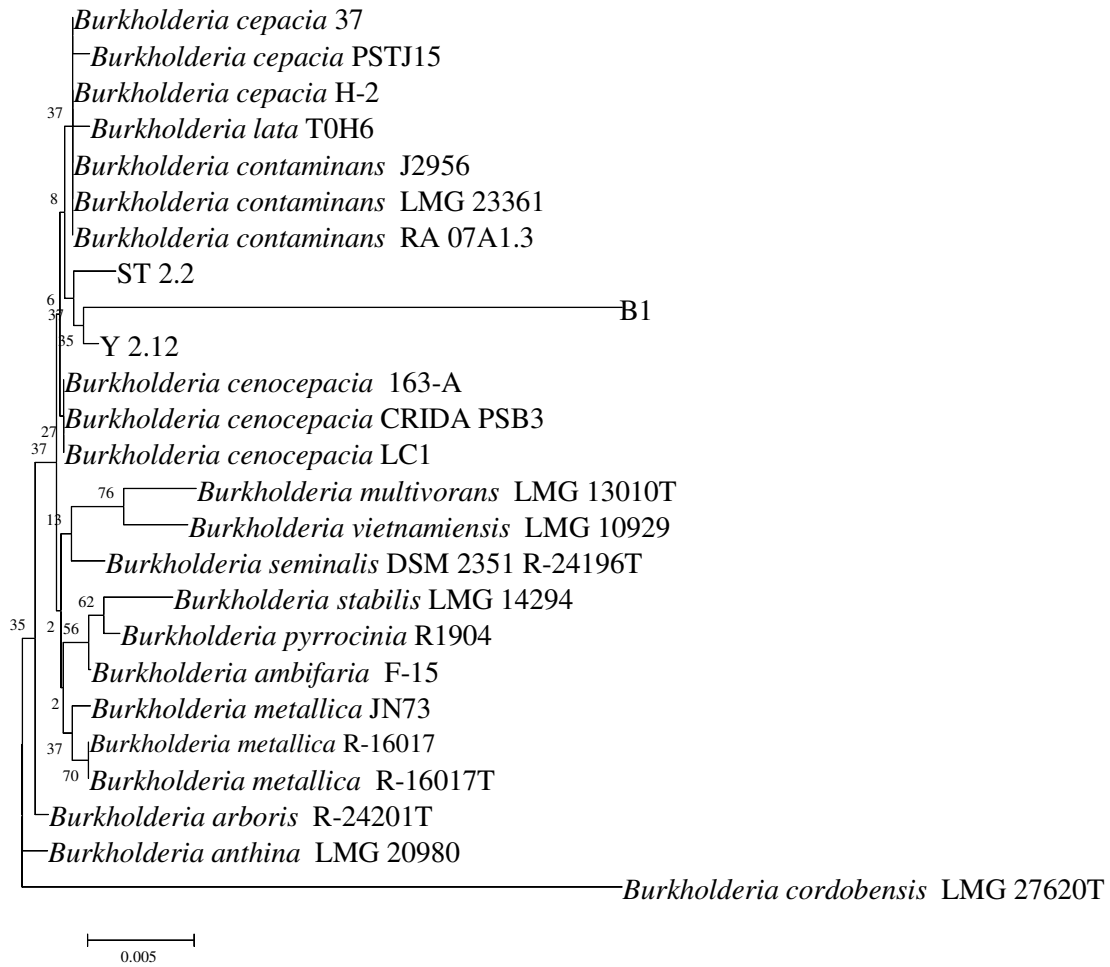
Isolat Na 1 sekerabat dengan *Alcaligenes faecalis* dengan tingkat kemiripan 100% (Gambar 10). Bakteri ini ditemukan pada benih gulma *Abutilon*

theophrasti dan *Datura stramonium* (Kremer *et al.*, 1987).

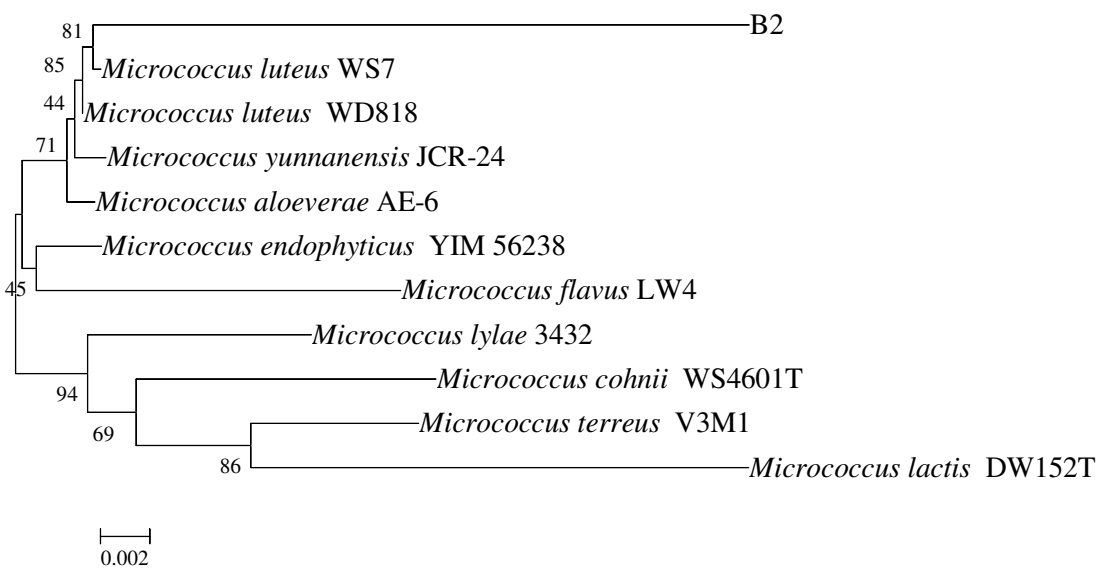
Isolat Na 7 sekerabat dengan *Acinetobacter* sp. dengan tingkat kemiripan 88% (Gambar 11). Dari beberapa penelitian melaporkan bahwa *Acinetobacter* sp. dapat menyebabkan kerusakan pada fase benih, kecambah sampai tanaman dewasa pada berbagai jenis tanaman seperti tanaman hortikultur, tanaman pangan dan tanaman keras dan menginfeksi berbagai organ (benih, tangkai bunga, batang, tunas). Bakteri ini ditemukan pada benih gulma *Abutilon theophrasti*, *Datura stramonium* (Kremer *et al.*, 1987), *Cassia fistula* (Kaur *et al.*, 2009) dan mentimun (Ofek *et al.*, 2011). Bakteri ini dapat menyebabkan busuk kecambah kedelai (Yun & Kim, 2003), layu pada bibit pinus (*Pinus thunbergii*) (Xie *et al.*, 2004), penyakit pada daun mangrove (*Rhizophora mangle*) (Ukoima *et al.*, 2009), patah tangkai bunga gerbera (*Gerbera jasmonii* L.) (Balestra *et al.*, 2005) dan kurma (*Phoenix dactylifera*) (Rivas *et al.*, 2007), mati pucuk pada mangga (Khan *et al.*, 2014), bercak bergaris pada daun tebu dan busuk



Gambar 7. Pohon filogenetik menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat AP3 berdasarkan sekuen 16S rRNA yang terdapat di *GenBank*. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan pendekatan *Neighbor-Joining* (NJ) dengan *bootstrap* 1000x. Sekuen *Pseudomonas stutzeri* digunakan sebagai *outgroup*



Gambar 8. Pohon filogenetik menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat B1, ST 2.2 dan Y 2.12 berdasarkan sekuen 16S rRNA yang terdapat di *GenBank*. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan pendekatan *Neighbor-Joining* (NJ) dengan *bootstrap* 1000x



Gambar 9. Pohon filogenetik menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat B2 berdasarkan sekuen 16S rRNA yang terdapat di *GenBank*. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan pendekatan *Neighbor-Joining* (NJ) dengan *bootstrap* 1000x

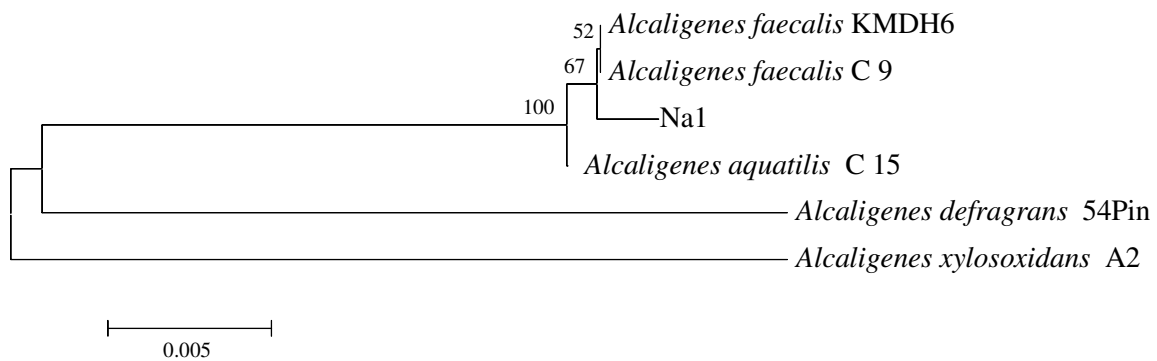
tunas tebu (Patro, 2006), busuk kayu pohon poplar (*Populus nigra*) (Tiedemann et al., 1977).

Isolat ST 1.3 sekerabat dengan *Escherichia hermannii* dengan tingkat kemiripan sebesar 99 % (Gambar 12). Penelitian melaporkan bahwa *E. hermannii* merupakan endofit pada benih jagung (Liu et al., 2013).

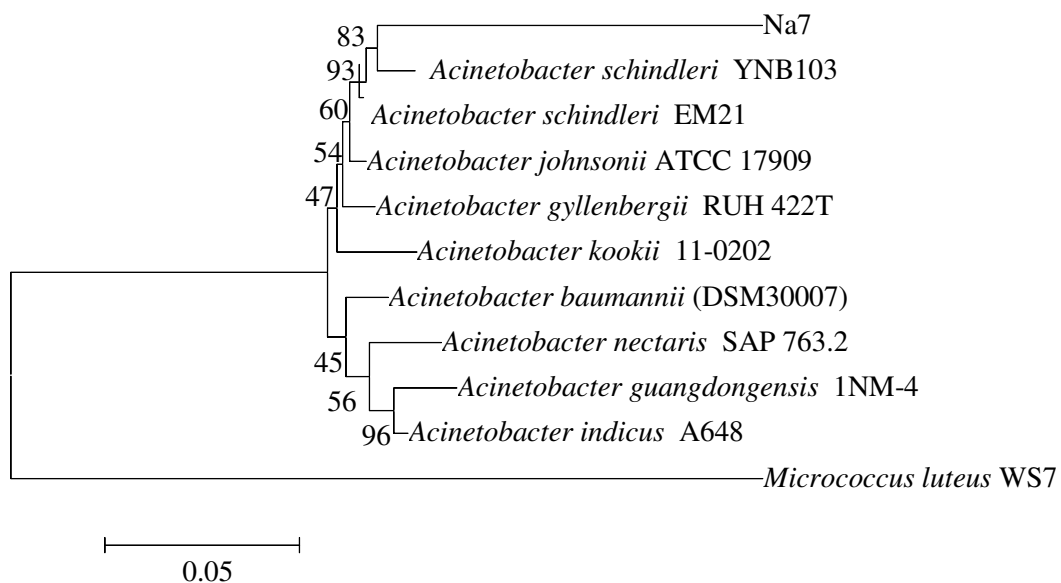
Isolat YT 1.17 sekerabat dengan *Salmonella bongori* dengan tingkat kemiripan sebesar 99 % (Gambar 13). *S. enterica* merupakan patogen dan ditemukan pada benih *Arabidopsis thaliana* (Cooley et al., 2003) dan kecambah alfalfa (Rudrappa et al., 2008). *S. bongori* ditemukan pada nodul pada batang pohon *Conzattia multiflora* (Wang et al., 2006).

Isolat YT 1.2 dan Y 2.14 sekerabat dengan *Pseudomonas stutzeri* dengan tingkat kemiripan 99% (Gambar 14). *P. stutzeri* ditemukan pada benih gulma *Abutilon theophrasti* dan *Ipomoea hederacea* (Kremer et al., 1987) dan menyebabkan bercak coklat coklat pada jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan jamur kancing (*Agaricus bisporus*) (Dawoud & Eweis, 2006).

Pengaruh Isolat Bakteri terhadap Perkecambahan Benih. Hasil sidik ragam pengaruh isolat bakteri terhadap perkecambahan benih akor tertera pada Tabel 4. Dari Tabel 4 diketahui bahwa isolat bakteri berpengaruh nyata terhadap persentase benih terinfeksi bakteri (berlendir), panjang tunas, panjang akar dan



Gambar 10. Pohon filogenetik menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat Na1 berdasarkan sekuen 16S rRNA yang terdapat di *GenBank*. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan pendekatan *Neighbor-Joining* (NJ) dengan *bootstrap* 1000x

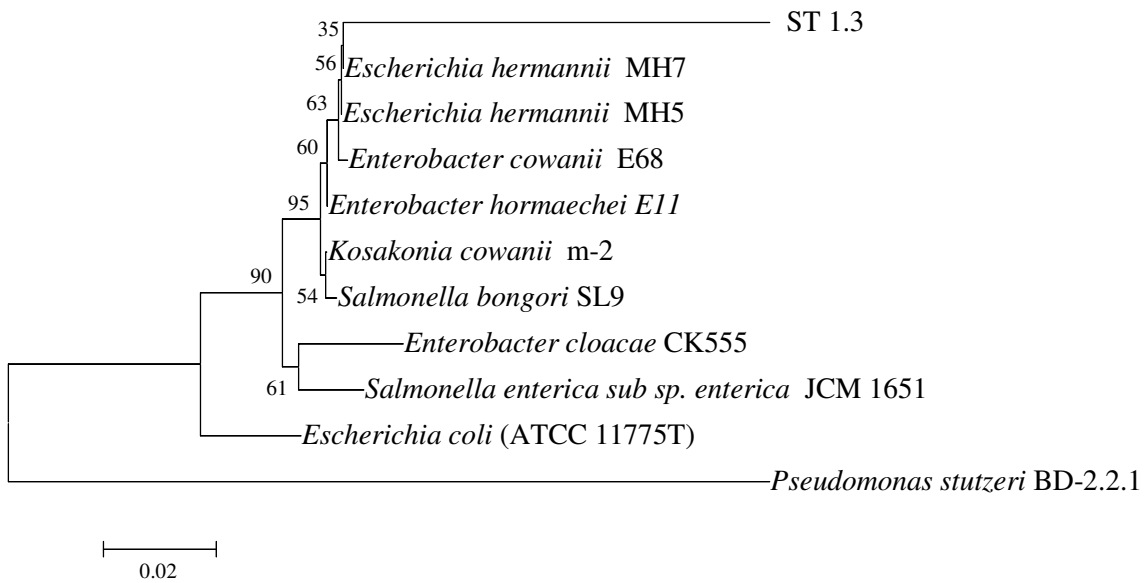


Gambar 11. Pohon filogenetik menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat Na 7 berdasarkan sekuen 16S rRNA yang terdapat di *GenBank*. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan pendekatan *Neighbor-Joining* (NJ) dengan *bootstrap* 1000x. Sekuen *Micrococcus luteus* digunakan sebagai *outgroup*

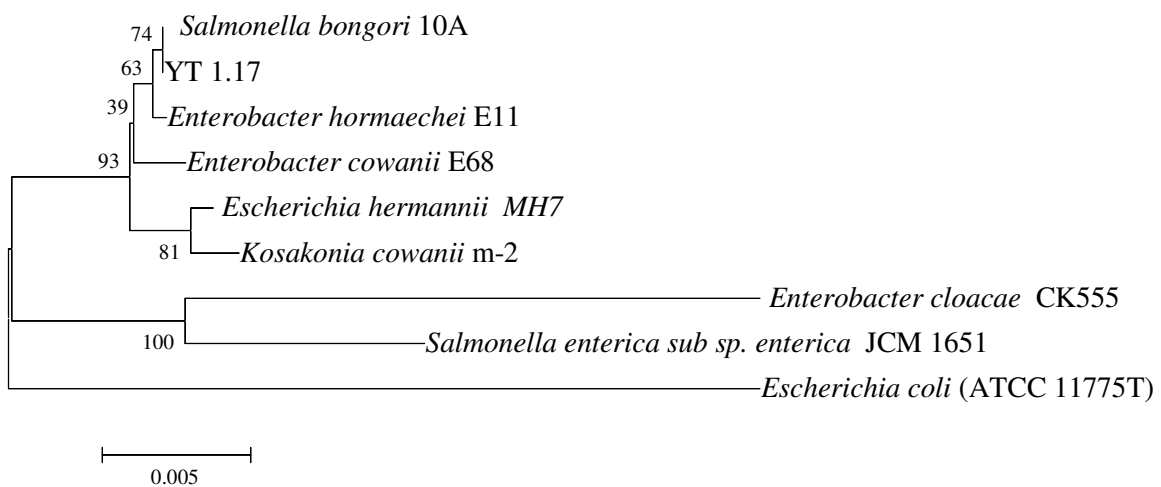
indeks vigor namun tidak berpengaruh nyata terhadap daya berkecambah benih.

Untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing perlakuan dilakukan uji beda rata-rata dengan uji Duncan (Tabel 5). Dari Tabel 5 terlihat bahwa pada kontrol, masih terdapat benih yang berlendir (20,5 %), diduga bakteri masih terdapat di permukaan benih walaupun sudah diberi NaOCl dan air panas. Barampuram *et al.*, (2014) melaporkan bahwa sterilisasi benih kapas dengan H₂O₂ dapat memperbaiki daya berkecambah dan

menurunkan mikroorganisme kontaminan dibanding larutan pemutih (NaOCl). Pencucian permukaan benih tidak dapat menghilangkan *S. enterica* dan *E.coli*, hal ini menunjukkan bahwa bakteri berada di tempat yang terlindungi/bagian dalam benih (Cooley *et al.*, 2003). Selain itu berbagai metode sterilisasi permukaan benih pun tidak dapat mematikan bakteri *enteric* (Beuchat *et al.*, 2001). Namun sterilisasi dengan NaOCl dapat meningkatkan daya berkecambah sebesar 6 % dan menurunkan persentase benih berlendir sebesar 21,5 %



Gambar 12. Pohon filogenetik menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat ST 1.3 berdasarkan sekuen 16S rRNA yang terdapat di GenBank. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan pendekatan Neighbor-Joining (NJ) dengan bootstrap 1000x. Sekuen Pseudomonas stutzeri digunakan sebagai outgroup



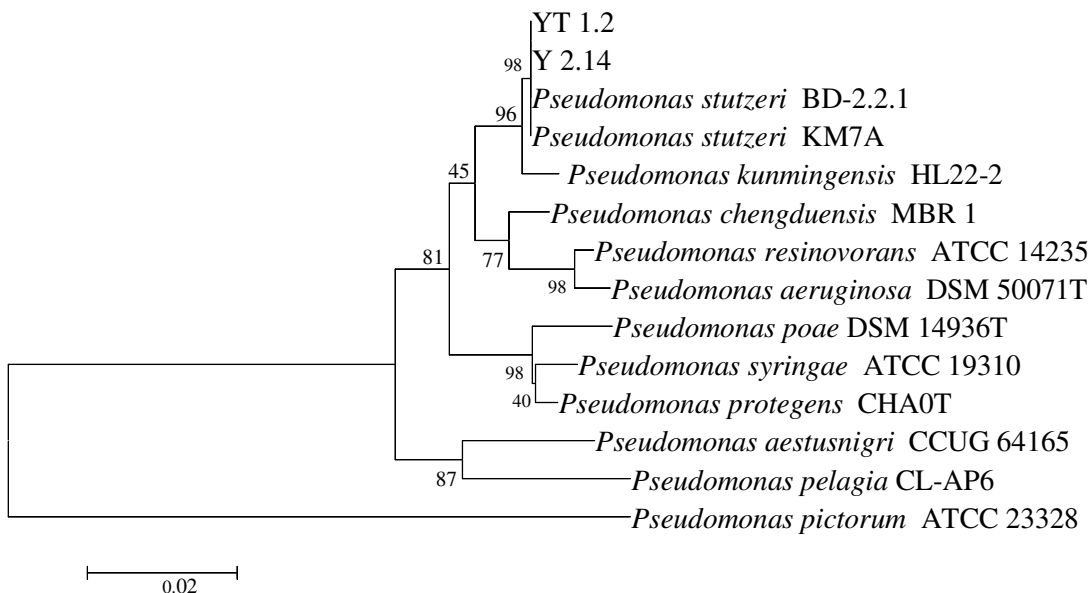
Gambar 13. Pohon filogenetik menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat isolat YT 1.17 berdasarkan sekuen 16S rRNA yang terdapat di GenBank. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan pendekatan Neighbor-Joining (NJ) dengan bootstrap 1000x

dibanding perlakuan pendahuluan dengan air panas (KU).

Bakteri tahan terhadap disinfektan dan suhu tinggi karena adanya pertahanan sel biofilm. Terbentuknya beberapa lapis biofilm (multilayer) menyebabkan senyawa klorin tidak bisa menembus bagian dalam. Semakin banyak matriks ekstraseluler yang dikeluarkan semakin besar kemampuan menghalangi masuknya klorin. Selain itu senyawa ekstraseluler sebagian besar merupakan senyawa organik dapat menghambat mekanisme kerja klorin. Biofilm *Salmonella* sp. dan *E. coli* sulit dihilangkan walaupun dengan suhu 100 °C karena EPS dapat melindungi sel sehingga tidak semua bakteri dapat dimatikan. Suhu panas merusak EPS dan sebagian besar bakteri yang dekat dengan permukaan (Silitonga et al., 2012).

Secara umum daya berkecambah benih yang diinokulasi bakteri lebih rendah dibanding kontrol sedangkan jumlah benih berlendir lebih tinggi dibanding kontrol. Daya berkecambah kontrol lebih besar dibanding daya berkecambah pada perlakuan panas dan dibiarkan dingin selama 24 jam (KU). Daya berkecambah kontrol sebesar 47,5 %. Suita (2013) melaporkan bahwa daya berkecambah benih akor asal Riau sebesar 41,33– 62 %. Semua parameter yang diamati pada benih yang diinokulasi *E. hermannii* dan *Paenochrobastrum* sp. relatif sama dengan pada kontrol.

Burkholderia cepacia complex, *A. faecalis*, *Acinetobacter* sp., *P. stutzeri*, *S. bongori* dan *Ralstonia* sp. dapat menurunkan daya berkecambah dan meningkatkan persentase benih berlendir. Bakteri tersebut dilaporkan dapat sebagai patogen tanaman



Gambar 14. Pohon filogenetik menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat isolat YT 1.2 dan Y 2.14 berdasarkan sekuen 16S rRNA yang terdapat di GenBank. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan pendekatan Neighbor-Joining (NJ) dengan bootstrap 1000x

Tabel 4. Analisis sidik ragam pengaruh pengaruh isolat bakteri terhadap perkecambahan benih akor

Peubah	F hitung
Daya berkecambah	1,054
Permukaan berlendir	1,520
Hampa berlendir	6,516**
Total lendir	2,451*
Panjang tunas	2,11*
Panjang akar	13,89 **
Indeks vigor	2,585*

* = berpengaruh nyata pada tingkat kepercayaan 95%

seperti *Burkholderia cepacia* complex (Ibrahim *et al.*, 2012), *Acinetobacter* (Jackson, 2009 dalam Khan, 2014), *Ralstonia* (Coenye *et al.*, 1999), *P. stutzeri* (Dawoud & Eweis, 2006) dan *Salmonella* (Kirzinger *et al.*, 2011).

Panjang akar pada perlakuan *Paenochrobactrum* sp. lebih tinggi dari kontrol sedangkan perlakuan *P. stutzeri*, *S. bongori* dan *Ralstonia* sp. menghasilkan panjang akar yang lebih rendah dan berbeda nyata dengan kontrol. Dengan demikian indeks vigor benih yang diinokulasi *Paenochrobactrum* sp. lebih tinggi dibanding kontrol sedangkan indeks vigor benih yang diinokulasi *P. stutzeri*, *S. bongori* dan *Ralstonia* sp. lebih rendah dibanding kontrol.

Panjang tunas pada perlakuan inokulasi *P. stutzeri* lebih tinggi sedangkan panjang akar lebih pendek dibanding kontrol. Sejalan dengan penelitian Raheem dan Ali (2015) yang melaporkan bahwa panjang tunas gandum yang diinokulasi *P. stutzeri* lebih besar dibanding kontrol. Azmat (2014) melaporkan bahwa inokulasi *P. stutzeri* pada benih kacang hijau menyebabkan penurunan panjang akar.

A. faecalis dapat menurunkan daya berkecambah dan meningkatkan panjang akar dibanding kontrol. *Alcaligenes* sp. menghasilkan auksin yang berfungsi dalam pertumbuhan akar tanaman (Mihalache, 2015). Penelitian lain (Kremer, 1990) melaporkan bahwa *A. faecalis* dapat menghambat pertumbuhan bibit beberapa jenis gulma. Bakteri menghasilkan toksin yang dapat menurunkan viabilitas benih dan vigor bibit.

Auksin mempunyai peranan dalam patogenesis bakteri. Auksin yang dihasilkan dapat menginduksi tanaman untuk menghasilkan auksin sehingga konsentrasi auksin tinggi. Konsentrasi auksin tinggi dapat meningkatkan virulensi patogen (Fu *et al.*, 2011 dalam Duca *et al.*, 2014). Selain itu konsentrasi auksin yang tinggi merupakan salah satu mekanisme patogen untuk mengkolonisasi inang (Chen *et al.*, 2007 dalam Duca *et al.*, 2014).

Panjang akar pada perlakuan (*Burkholderia cepacia* complex) lebih besar dibanding kontrol. *Burkholderia* sp. menghasilkan hormon giberelin dan enzim ACC deaminase yang berfungsi untuk mengatur pertumbuhan dan perkembangan akar (Mihalache, 2015). Hormon giberelin berperan juga dalam patogenesis (Baca & Elmerich, 2007). Menurut Levy (2007), *B. vietnamiensis* dapat menurunkan pesentase perkecambahan *Trifolium subterraneum* dengan populasi 1×10^6 sehingga *B. vietnamiensis* bv. *trifolii* merupakan patogen tanaman dan menurunkan perkecambahan *Acacia coleii* pada populasi 1×10^8

Tabel 5. Hasil uji Duncan pengaruh isolat bakteri terhadap perkecambahan benih akor di media kertas

Perlakuan	Daya berkecambah		Permukaan berlendir		Hampa berlendir		Total lendir	Panjang tunas	Panjang akar	Indeks vigor				
Kontrol	47,5	a	20,5	a	0	d	20,5	c	1,52	bcd	1,26	bc	133	ab
Na 1 (<i>A. faecalis</i>)	39	a	6,5	a	17	cd	23,5	bc	1,53	abcd	1,85	a	132	ab
Na 7 (<i>Acinetobacter</i> sp.)	40	a	15	a	8,5	cd	23,5	bc	1,53	abcd	1,22	bc	109	bc
ST 1.3 (<i>E. hermannii</i>)	47	a	8,5	a	12,5	cd	21	c	1,51	cd	1,39	b	136	ab
ST 2.2 (<i>Burkholderia cepacia</i> complex)	42	a	16,5	a	4	d	20,5	c	1,64	abcd	1,45	b	129	ab
Y 2.12 (<i>Burkholderia cepacia</i> complex)	46,5	a	4	a	24,5	bc	28,5	bc	1,49	cd	1,38	b	134	ab
Y 2.14 (<i>P. stutzeri</i>)	46,5	a	15,5	a	17	cd	32,5	abc	1,72	abcd	1,04	cd	128	ab
YT1.2 (<i>P. stutzeri</i>)	30,5	a	2	a	35,5	ab	37,5	abc	1,68	abcd	0,7	e	73	c
YT 1.17 (<i>S. bongori</i>)	41	a	24	a	4	d	28	bc	1,53	abcd	0,85	de	98	bc
AP 3 (<i>Ralstonia</i> sp.)	42,5	a	5,5	a	45,5	a	51	a	1,45	d	0,91	de	100	bc
KB 3 (<i>Paenochrobactrum</i> sp.)	48	a	15,5	a	3,5	d	19	c	1,54	abcd	1,85	a	163	a
KU (perlakuan pendahuluan)	41,5	a	16,5	a	25,5	bc	42	ab	1,73	a	0,87	de	108	bc

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan taraf 5 %

namun bakteri ini dapat meningkatkan perkecambahan *A. colei* pada populasi 1×10^6 sehingga bakteri ini menguntungkan atau merugikan tergantung pada jenis benih (genotipe tanaman) dan kepadatan populasi bakteri.

Escherichia sp. dapat menghasilkan sitokinin (Mihalache, 2015). Sitokinin berperan dalam pertumbuhan tanaman dan juga patogenesis (Baca & Elmerich, 2007). Rata-rata panjang akar benih akor yang diinokulasi bakteri ini lebih tinggi dibanding kontrol. *E. hermannii* dapat menyebabkan fitotoksik lemah (Zhao, 2009).

Bakteri menimbulkan penyakit salah satunya karena mempunyai faktor patogenesitas dan tingkat patogenesitas dipengaruhi oleh faktor virulensi (Joko *et al.*, 2014). Beberapa faktor penentu patogenesitas bakteri patogen tanaman antara lain sistem sekresi tipe I-VI (Rakhashiya *et al.*, 2016), eksopolisakarida (EPS) dan lipopolisakarida (LPS) (Arwiyanto, 2014). T3SS merupakan mekanisme penting dalam patogenesitas bakteri Gram negatif patogen tanaman (Rakhashiya *et al.*, 2016). Keberadaan salah satu atau beberapa faktor penentu patogenesitas dapat menyebabkan bakteri bersifat patogen atau *deleterious* terhadap inang. Beberapa bakteri endofit dilaporkan mengandung gen faktor virulensi seperti *Salmonella enterica* (Barak, 2005).

SIMPULAN

Bakteri terbawa benih akor (*A. auriculiformis*) antara lain *Paenochrobactrum* sp., *Ralstonia* sp., *Burkholderia cepacia* complex, *Pseudomonas stutzeri*, *Acinetobacter* sp., *Alcaligenes faecalis*, *Salmonella bongori*, *Escherichia hermannii* sedangkan patogen penyebab bercak pada daun bibit akor adalah *Micrococcus luteus* dan *Burkholderia cepacia* complex. *Burkholderia cepacia* complex *A. faecalis*, *Acinetobacter* sp., *P. stutzeri*, *S. bongori* dan *Ralstonia* sp. dapat menurunkan daya berkecambah dan meningkatkan persentase benih berlendir sehingga bakteri tersebut diduga merupakan patogen pada benih akor. *Ralstonia* sp. meningkatkan persentase benih berlendir dan menurunkan panjang tunas dan panjang akar. *P. stutzeri* dan *S. bongori* menghambat pertumbuhan akar. *Paenochrobactrum* sp. dan *E. hermannii* diduga merupakan patogen dengan virulensi lemah karena daya berkecambah, persentase infeksi benih terinfeksi dan index vigor benih yang diinokulasi *E. hermannii* dan *Paenochrobactrum* sp. relatif sama dengan pada kontrol.

SANWACANA

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pusat Diklat Kehutanan, Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan yang telah membantu dana penelitian ini serta Ibu Ir. Woro Darmini, Pak Andri dan Pak Maryono yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arwiyanto T. 2015. *Ralstonia solanacearum: Biologi, Penyakit yang Ditimbulkan dan Pengelolaannya*. Gadjah Mada University Press.
- Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, & Smith JA. 2003. *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley & Sons Inc.
- Avisé JC. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. New York: Chapman & Hall.
- Azmat R. 2014. The impact of siderophore secretion by *Pseudomonas stutzeri* to chelating Cu metal in solution culture. *Pak. J. Bot.* 46(1) : 383-387.
- Baca BE & Elmerich C. 2007. Microbial production of plant hormones. In: Elmerich C & Newton WE (eds.). *Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations*. pp. 113–143. Springer, The Netherlands.
- Balestra GM, Agostini R, Bellincontro A, Mencarelli F, & Varvaro L. 2005. Bacterial populations related to gerbera (*Gerbera jamesonii* L.) stem break. *Phytopathol. Mediterr.* 44: 291–299.
- Barak JD, Gorski L, Naraghi-Arani P, & Charkowski AO. 2005. *Salmonella enterica* virulence genes are required for bacterial attachment to plant tissue. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(10): 5685-5691.
- Barampuram S, Allen G, & Krasnyansi KS. 2014. Effect of various sterilization procedures on the in vitro germination of cotton seeds. Research Note. *Plant Cell Tiss. Org.* 118(1): 179–185.
- Berlian I. 2012. Analisis Patogenesitas dan Karakterisasi Keragaman Genetik Banana Blood Diseases Bacterium (BBDB). [Tesis]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Beuchat LR, Ward TE, & Pettigrew CA. 2001. Comparison of chlorine and a prototype produce wash product for effectiveness in killing *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *J. Food Prot.* 64(2): 152-158.

- Bolkan HA, Waters CM, & Fatmi M. 1997. *Clavibacter michiganensis* sub sp. *michiganensis*. Working Sheet 67 In: *ISTA Handbook on Seed Health Testing*. Zurich, Switzerland: International Seed Testing Association.
- Coenye T, Falsen E, Vancanneyt M, Hoste B, Govan JRW, Kersters K, & Vandamme P. 1999. Classification of *Alcaligenes faecalis*-like isolates from the environment and human clinical samples as *Ralstonia gilardii* sp. nov. *Int. J. of Syst. Bacteriol.* 49: 405-413.
- Coenye T, Vandamme P, Govan JRW, & LiPuma JJ. 2001. Taxonomy and identification of the *Burkholderia cepacia* complex. *J. Clin. Microbiol.* 39(10): 3427 – 3436.
- Compant S, Reiter B, Sessitsch A, Nowak J, Clement C, & Barka EA. 2005. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(4): 1685-1693.
- Cooley MB, Miller WG, & Mandrell RE. 2003. Colonization of *Arabidopsis thaliana* with *Salmonella enterica* and enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and competition by *Enterobacter asburiae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(8): 4915-4926.
- Dawoud MEA & Eweis M. 2006. Phytochemical control of edible mushrooms pathogenic bacteria. *J. Food, Agric. Environ.* 4(1): 321-324.
- Duca D, Lorv J, Patten CL, Rose D, & Glick BR. 2014. Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. *Antonie van Leeuwenhoek* 106(1): 85–125.
- Fanani AK, Abadi AL, & Aini LQ. 2015. Eksplorasi bakteri patogen pada beberapa spesies tanaman kantong semar (*Nepenthes* sp.). *Jurnal HPT* 3(3) : 104–110.
- Castro-Gonzalez R, Martinez-Aguilar L & Ramirez-Trujillo A, Estrada-de los Santos P, & Caballero-Mellado J. 2011. High diversity of culturable *Burkholderia* species associated with sugarcane. *Plant Soil* 345(1): 155–169.
- Gosling P. 2007. *Raising Trees and Shrubs from Seed*. Practice Guide. Forestry Commission. Edinburgh.
- Hadianto W, Hakim L, & Bakhtiar. 2015. Ketahanan beberapa genotipe padi terhadap penyakit hawar daun bakteri (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*). *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika* 15(2): 152–163.
- Haishui Z & Zengjiang Y. 1993. Acacias for rural, industrial, and environmental development in Southern China. In: Awang K & Taylor DA (eds.). *Acacias for Rural, Industrial, and Environmental Development*. pp. 15-20 .The Second Meeting of the Consultative Group for Research and Development of Acacias (COGREDA), Thailand, February, 15 -18, 1993.
- Hendrati RL, Nurrohmah SH, Susilawati S, & Budi S. 2014. *Budidaya Acacia auriculiformis untuk Kayu Energi*. IPB Press.
- Iakovleva LM, Makhinia LV, Shcherbina TN, & Ogorodnik LE. 2013. *Micrococcus* sp. the pathogen of leaf necrosis of horse-chestnuts (*Aesculus* L.) in Kiev. *Mikrobiol. Z.* 75(3): 62–67.
- Ibrahim M, Tang Q, Shi Y, Almoneafy A, Fang Y, Xu L, Li W, Li B, & Xie GL. 2012. Diversity of potential pathogenicity and biofilm formation among *Burkholderia cepacia* complex water, clinical and agricultural isolates in China. *World J. Microb. Biot.* 28(5): 2113–2123.
- Islam SS, Islam MS, Hossain Md. AT, & Alan Z. 2013. Optimal rotation interval of akashmoni (*Acacia auriculiformis*) plantations in Bangladesh. *Kasetsart J. Soc. Sci.* 34: 181 – 190.
- Joker. 2001. *Acacia auriculiformis* Cunn. ex Benth. Informasi Singkat Benih. Direktorat Perbenihan Tanaman Hutan.
- Joko T, Kusumandari N, & Hartono S. 2011. Optimasi metode PCR untuk deteksi *Pectobacterium carotovorum*, penyebab penyakit busuk lunak anggrek. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 17(2): 54–59.
- Joko T, Subandi A, Kusumandari N, Wibowo A, & Priyatmojo A. 2014. Activities of plant cell wall-degrading enzymes by bacterial soft rot of orchid. *Arch. Phytopathol. Plant Prot.* 47(10): 1239 – 1250.
- Kaur N, Sharma S, Sood A, & Kumar V. 2009. Incidence and interaction of seed borne micro flora of *Cassia fistula* in the Himalayan Region. *Cameroon J. Exp. Biol.* 5(1) : 21 -24.

- Khan IA, Khan A, Asif H, Jiskani MM, Muhlbach HP, & Azim MK. 2014. Isolation and 16s rDNA sequence analysis of bacteria from dieback affected mango orchards in Southern Pakistan. *Pakistan J. Bot.* 46(4): 1431-1435.
- Kirzinger MWB, Nadarasah G, & Stavrinides J. 2011. Insights into cross-kingdom plant pathogenic bacteria. *Genes* 2(4): 980 – 997.
- Kremer RJ. 1987. Identity and properties of bacteria inhabiting seeds of selected broadleaf weed species. *Microb. Ecol.* 14(1): 29 – 37.
- Kremer RJ, Begonia MFT, Stanley L, & Lanham ET. 1990. Characterization of rhizobacteria associated with weed seedlings. *Appl. Environ. Microbiol.* 56(6): 1649-1655.
- Levy A. 2007. Modelling Rhizosphere Interactions of *Burkholderia* Species. [Thesis]. Microbiology and Immunology School of Biomedical and Chemical Sciences. The University of Western Australia.
- Liu Z, Zuo S, Zou Y, Wang J, & Song W. 2013. Investigation on diversity and population succession dynamics of endophytic bacteria from seeds of maize (*Zea mays* L., Nongda108) at different growth stages. *Ann. Microbiol.* 63(1):71–79.
- Mahenthalingam E., Bischof J, Byrne SK, Radomski C, Davies JE, Av-Gay Y, & Vandamme P. 2000. DNA-based diagnostic approaches for identification of *Burkholderia cepacia* complex, *Burkholderia vietnamiensis*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia stabilis*, and *Burkholderia cepacia* Genomovars I and III. *J. Clin. Microbiol.* 38(9): 3165-3173.
- Marchesi JR, Sato T, Weightman AJ, Martin TA, Fry JC, Hiom SJ, Dymock D, & Wade WG. 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Appl. Environ. Microb.* 64(2): 795 – 799.
- Mihalache G, Zamfirache MM, & Stefan M. 2015. Root associated bacteria – friends or enemies?. *Memoirs of the Scientific Sections of the Romanian Academy Tome XXXVIII*: 28-54.
- Ofek M, Hadar Y, & Minz D. 2011. Colonization of cucumber seeds by bacteria during germination. *Environ. Microbiol.* 13(10): 2794–2807.
- Patro TSSK, Rao GVN, & Gopalakrishnan J. 2006. Association of *Acinetobacter baumannii* with a top rot phase of sugarcane redstripe disease in India. *Indian Phytopathology* 59(4): 501-502.
- Raheem A & Ali B. 2015. Halotolerant rhizobacteria: beneficial plant metabolites and growth enhancement of *Triticum aestivum* L. in salt-amended soils. *Arch. Agronom. Soil Sci.* 61(12): 1691-1705.
- Rakhashiya PM, Patel PP, & Thaker VS. 2015. Whole genome sequences and annotation of *Micrococcus luteus* SUBG006, a novel phytopathogen of mango. *Genomics Data* 6: 10–15.
- Rakhashiya PM, Patel PP, Sheth BP, Tank JG, & Thaker VS. 2016. Detection of virulence and pathogenicity genes in selected phytopathovars. *Arch. of Phytopathology Plant Protect.* 49(1 - 4): 64–73.
- Rivas R, Fraile PG, Mateos PF, Martinez EM, & Velazquez E. 2007. Characterization of xylanolytic bacteria present in the bract phyllosphere of the date palm *Phoenix dactylifera*. *Lett. Appl. Microbiol.* 44(2): 181–187.
- Rudrappa T, Biedrzycki ML, & Bais HP. 2008. Causes and consequences of plant-associated biofilms. *FEMS Microbiol. Ecol.* 64(2): 153 – 166.
- Sands DC. 1990. Physiological criteria: determinative tests. In: Klement Z, Rudolph K, & Sands DC (eds.). *Methods in Phytobacteriology*. pp. 133–143. Akademiai Kiado, Budapest.
- Schaad NW, Jones JB, & Chun W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Third Edition. APS Press.
- Silitonga YW, Jamilah I, & Suryanto D. 2012. Pengendalian sel biofilm bakteri patogen oportunistik dengan panas dan klorin. *Saintia Biologi* 1(1): 46 – 51.
- Suita E. 2013. Pengaruh sortasi benih terhadap viabilitas dan pertumbuhan bibit akor (*Acacia auriculiformis*). *Jurnal Perbenihan Tanaman Hutan* 1(2): 83-91.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipowski A, & Kumar S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30(12): 2725–2729.

- Tiedemann G, Bauch J, & Bock E. 1977. Occurrence and significance of bacteria in living trees of *Populus nigra* L. *Forest Pathology* 7(6): 364-374.
- Turnbull JW, Midgley SJ, & Cossalter C. 1998. Tropical acacias planted in Asia : an overview. In: Turnbull JW, Crompton HR, & Pinyopusarek K (eds.). *Recent Developments in Acacia Planting*. pp. 14 – 28. Australian Centre for International Agricultural Research, Hanoi, Vietnam, October, 27 – 30, 1997.
- Ukoima HN, Wemedo SA, & Ekpirikpo AO. 2009. Survey of bacterial pathogens on leaves and seeds of red mangrove (*Rhizophora mangle*). *African J. Environ. Sci. Technol.* 3(5): 116-119.
- Umesha S. 2006. Occurrence of bacterial canker in tomato fields of Karnataka and effect of biological seed treatment on disease incidence. *Crop Prot.* 25(4): 375–381.
- Vanlaere E, Baldwin A, Gevers D, Henry D, De Brandt E, LiPuma JJ, Mahenthiralingam E, Speert DP, Dowson C, & Vandamme P. 2009. Taxon K, a complex within the *Burkholderia cepacia* complex, comprises at least two novel species, *Burkholderia contaminans* sp. nov. and *Burkholderia lata* sp. nov. *Int. J. Systematic and Evolutionary. Microbiol.* 59: 102–111.
- Wang ET, Tan ZY, Guo XW, Duran RR, Boll G, & Romero EM. 2006. Diverse endophytic bacteria isolated from a leguminous tree *Conzattia multiflora* grown in Mexico. *Arch. Microbiol.* 186(4): 251–259.
- Xie L, Ju Y, & Zhao B. 2004. Dynamics of populations of nematode and bacteria in the process of pine wilt disease. *Scientia Silvae Sinicae* 40(4): 124-129.
- You L, Wei Q, Gua H, & Zhang Y. 2013. Phylogenetic diversity of cultivable endophytic bacteria isolated from *Litsea cubeba*. *J. Northwest A & F University - Natural Science Edition* 4(4): 210 – 216.
- Yun SC & Kim YH. 2003. Pathogenic bacteria causing rot in commercial soybean sprout cultivation. *Korean J. Crop Sci.* 48(2): 113-119.
- Zhao BG, Lin F, Guo D, Li R, Li S, Kulinich O, & Ryss A. 2009. Pathogenic roles of the bacteria carried by *Bursaphelenchus mucronatus*. *J. Nematol.* 41(1): 11–16.